

Szarka András MTA doktori értekezésének bírálata

Szarka András doktori értekezésében Szentgyörgyi Albert munkásságához kapcsolódó tématerületen, a C-vitamin növényekben végbemenő bioszintézisének és transzportjának felderítésére irányuló kutatási eredményeit foglalta össze.

A 173 oldalas értekezés 47 ábrát, 21 táblázatot és 529 irodalmi hivatkozást tartalmaz. Ezen utóbbiak közül 30 cikk kötődik magyar szerzőkhöz, 14 cikkben a jelölt is társszerzőként szerepel, ebből 8 alkalommal első szerző.

A disszertáció felépítése és részarányai megfelelőek, azonban az irodalomjegyzék mérete túlzottnak tekinthető. Alapvető gond van a nevezéktan és a rövidítések következetes alkalmazásával. Az értekezés elején – nagyon helyesen – 4 oldalas rövidítésjegyzék szerepel, azonban ez nem teljes, így a szövegben szerepelnek értelmezés nélküli rövidítések, pl. NEAA, HEPES, PAGE, DMSO. Másik kifogásolandó tény, hogy a szerző a különböző alfejezetekben teljesen rendszertelenül hol a rövidítést, hogy a teljes kémiai elnevezést használja. Például a BSA – marha szérum albumin; ditiotreitol – DTT; TCA – triklórecetsav esetében. Az értekezés nyelvezete szempontjából ügyelni kellett volna arra is, hogy minden esetben a vegyületek magyar elnevezését tüntessék fel.

Például 2.21. alfejezet:

... 2 µl AMS (4-acetamino-4'-maleimidylstilbene-2,2'-diszulfonsav szerepel. A következetesség hiányát támasztja alá az 59. oldal, ahol ugyanazon vegyületet először 2,4-diklorofenoxiecetsavként, majd néhány sorral lejjebb 2,4-diklórfenoxiecetsavként jelöl meg. Hasonló példa a monoklórbimán és a monoklorobimán (65. és 66. oldal).

Kerülendő lett volna az un. labor-szleng használata, pl:

- 64. oldal 2.12. alfejezet: A fluoreszcenciát 350 nm-es excitációs és 460 nm emissziós hullámhosszaknál követtük nyomon. Itt természetesen gerjesztési hullámhosszról van szó, ahogy azt az értekezés többi részében helyesen írta;
- 66. oldal 2.16 alfejezet: izokratikus mozgófázis; ami izokratikus áramlású állandó összetételű mozgófázist jelent;
- 69. oldal 2.23. alfejezet: aszkorbil gyök mérésénél a mintaspektrumokat „kvarc flat cell-ben vettük fel”. Helyesen: lapos kvarc cellában vettük fel.

Táblázatok: A 21 táblázat hasznos támpontot ad az olvasónak, azonban az in-silico becslésekre vonatkozó 12, 13, és 14. táblázatokban az N-terminális szekvenciára vonatkozó adatok olvashatatlanok.

Ábrák: Az első 9 ábra az irodalmi háttér megértését segíti. A következő 21 ábra a kísérleti eredményeket tünteti fel, amelyek alapján született a 31. ábrán látható hipotetikus modell. A további 16 ábra ismét kísérleti eredmények adataira épült.

Általános megjegyzés a mérési eredményeket feltüntető ábrákhoz, hogy az ábraszövegben jelezni kell a mérések számát, amelynek eredményeképpen az oszlopdigramban vagy egy függvénykapcsolat vizsgálatánál az egyes mérési pontoknál a feltüntetett szórásstartomány kialakult.

A szórásstartományok a 32A és a 35B ábrákon nincsenek feltüntetve. A 35A ábrán csak a kontroll esetében van szórásstartomány megadva, de ott sincs a mérések száma megadva.

A 10. ábrán hasznos lett volna bejelölni az extramitokondriális szintet.

A kísérleti módszereket 38 alpontban ismertette a szerző, amelyeknél az alábbi kérdések merültek fel:

- A mitokondrium sejt kultúrákból, zöld növényekből és csicsókából történő izolálásának leírásánál (2.8, 2.9 és 2.10 alpontok) részben eltérő feltáró és mosópuffereket használt, azonban nincs információ arról, hogy ezen eltérések egy optimalizálást követően alakultak ki, vagy rutinszerűen végzett laboratóriumi munka eredményeként születtek.
- Alapvető hiányosság, hogy nincs hőmérsékletre vonatkozó adat a 2.9 és 2.10 alpontokban, amely a sűrűséggradiens centrifugálás esetében meghatározó jelentőségű.
- A mitoplasztok intaktságának ellenőrzését a szubmitokondriális partikulák preparálásánál bemutatja a szerző a 2.12 alpontban. Azonban az intaktság kérdése a mitokondriumok kinyerésénél is alapvető szempont, melyre a 2.28. alpontban kapunk választ, de kérdés, hogy milyen mértékű abszorbancia csökkenés fogadható el intaktság szempontjából az enzimaktivitás mérése során?
- A 2.13 alpontban megfelelő radioaktívan jelölt vegyületről van említés. Az értekezésben néhány oldallal hátrább derül ki, hogy ^{14}C jelölést alkalmaztak.
- Hogyan hitelesítették a HPLC-méréseiket és voltak-e vakértékek, illetve vakérték korrekciók?

Az eredmények értékelése kapcsán az alábbi kérdések merültek fel:

- 79. oldal: „Éppen ezért a redukált formára az aszkorbátra specifikus mitokondriális transzporter létezése megkérdőjelezhető.” Akkor hogyan történik az aszkorbát transzportja? Van-e erre kísérleti igazolás, vagy csak feltételezés létezik erről a folyamatról?
- Az aszkorbátnak, a dehidro-aszkorbátnak és a glükóznak a BY2 dohány mitokondriumba és mitoplasztokba történő felvételének vizsgálati eredményeit az 1. és a 4. táblázat tünteti fel. Mivel magyarázható a felvételben mutatkozó, mintegy egy nagyságrendbeli különbség a mitokondrium javára, és miért változnak meg a V_{\max} egymáshoz viszonyított arányai a két táblázatban?
- A 3.8.1. alfejezet 9. táblázatában a fruktóz, szacharóz és glükóz felvételére vonatkozó adatok vannak feltüntetve. Ezen adatok a mitokondriumra és a mitoplasztra gyakorlatilag azonosak, ami arra enged következtetni, hogy a külső mitokondriális membránon keresztül a kis mólsúlyú anyagcsere termékek egyszerűen átjutnak, ezért azonos felvételt mutatnak a vizsgált alkotókra. Ennek tükrében ismét felmerül, hogy hogyan értelmezhetők az 1. és 4. táblázat adatai?

A tézisek értékelése:

Több tézispont esetében gondot jelent a kísérleti tényekre alapozó, de még nem egyértelműen igazolt tudományos következtetések megtétele. Ezek részben csak hipotézisnek tekinthetők.

Kritikai megjegyzéseim az alábbi tézispontokra vonatkoznak:

6. Tézispont:

„Kimutattuk, hogy a ppr-40 növényeket mind sejt, mind mitokondriális szinten jóval alacsonyabb és oxidáltabb C-vitamin szint jellemzi a vad típusú növényekhez viszonyítva. Az aszkorbát (DHA-ból történő) regenerációjáért felelős GSH függő folyamat, az aszkorbát-glutation ciklus minden enzimének aktivitása megemelkedik a ppr-40 mutáns növényekben és az azokból mitokondriumokban. (Ez csak mondatszerkesztési korrekció.)

7. Tézispont:

Kimutattuk, hogy növényi sejtekben a plazmamembránon keresztüli C-vitamin transzport esetében lineáris... (Ez csak fogalmazásbeli korrekció.)

8. Tézispont:

Nem elfogadható, mivel nem minden elemében igazolt tényeken alapul, csak következtetéseken.

10. Tézispont:

Első fele elfogadható, mivel értékes megfigyeléseken és adatokon alapul. Azonban a második részben egy feltételezéssel állunk szemben, miszerint a „... mitokondrium bakteriális eredete alapján könnyen elképzelhető, hogy...”. A tézispont ezen része törlendő.

14. Tézispont:

A tézis első két mondata helytálló tényeken alapul. A második részben már ismét találkozunk a „könnyen elképzelhető” tartalmú kijelentéssel. Az utolsó mondat is feltételes módban született, így „... az ARL a gépezet egy fontos alkotója lehet, az mtDNS pedig fontos szabályzó szerepet tölthet be...” Van-e kellő indoklás ennek alátámasztására és ennek birtokában tézisként való elfogadására?

Az új tudományos eredményeket összefoglaló tézisek értékelése alapján kijelenthető, hogy az 1., 2., 3., 4., 5., 9., 11., 12., 13., és 15. tézispontok változtatás nélkül, míg a 6. és 7. tézispontok egyszerű nyelvtani korrekció, illetve mondatrész áthelyezés után elfogadhatók. A 10. és 14. tézisek első fele fogadható csak el, mivel második részük már feltételezéseken alapul. Ezzel szemben a 8. tézispont, amely egy hipotetikus modellt foglal magába, még megerősítésre vár, és további, az állítást igazoló eredmények birtokában válhat majd csak tézissé a kutatócsoport valamely tagjának disszertációjában.

Összességében kijelenthető, hogy Szarka András rendkívül értékes kutatási eredményeket ért el a növényi sejtekben végbemenő biokémiai folyamatok feltárásában és értelmezésében. Megfigyelései és következtetései utat nyitnak mind növényélettani, mind élelmiszertudományi kutatásoknak. Mindezek tükrében kijelentem, hogy a doktori munka tudományos eredményeit elegendőnek tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez és javaslom a nyilvános védés kitűzését.

Budapest, 2017. február 20.



Zárar Gyula
professor emeritus
a kémiai tudomány doktora